

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/US04/041081

International filing date: 08 December 2004 (08.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: RU  
Number: 2003135482  
Filing date: 08 December 2003 (08.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 11 March 2005 (11.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ



ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ  
ПРОМЫШЛЕННОЙ СОБСТВЕННОСТИ

Бережковская наб., 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-5, 123995  
Телефон 240 60 15. Телекс 114818 ПДЧ. Факс 243 33 37

Наш № 20/12-118

“28” февраля 2005 г.

## СПРАВКА

Федеральный институт промышленной собственности (далее – Институт) настоящим удостоверяет, что приложенные материалы являются точным воспроизведением первоначального описания, формулы, реферата и чертежей (если имеются) заявки № 2003135482 на выдачу патента на изобретение, поданной в Институт в декабре месяце 8 дня 2003 года (08.12.2003).

us/04/41081

Название изобретения:

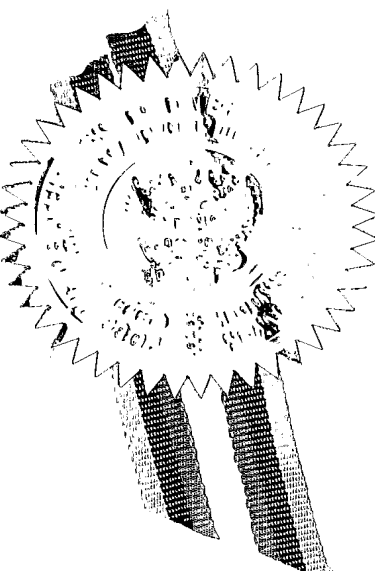
Геропротектор на основе гидрированных пиридо (4,3-b) индолов (варианты), фармакологическое средство на его основе и способ его применения

Заявитель:

БАЧУРИН Сергей Олегович  
ГРИГОРЬЕВ Владимир Викторович

Действительные авторы:

БАЧУРИН Сергей Олегович  
ГРИГОРЬЕВ Владимир Викторович



Заведующий отделом 20

А.Л. Журавлев

2003135482



A 61 K 31/475

A 61P 43/00

**ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ ПИРИДО (4,3-б)  
ИНДОЛОВ (варианты), ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ.**

Изобретение относится к использованию химических соединений в области медицины и может быть использовано как геропротекторное средство при изготовлении фармакологических препаратов для профилактики преждевременного старения организма, а именно продления жизни и улучшения ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста.

Пожилой и старческий возраст характеризуется значительным увеличением вероятности наступления смерти. Кроме того, резко увеличивается вероятность проявлений различных патологий, совместимых с жизнью, понижающих ее качество. У млекопитающих к таким патологиям относятся, в частности, потеря зрения (катаракта), ухудшение кожно-волосного покрова (аллопеция), старческое снижение веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

В последние годы в мире наблюдается значительный интерес к поиску новых препаратов и средств, направленных на решение этой проблемы.

Увеличивали продолжительность жизни в эксперименте витамины А, С. Е. (Baker G.T. Effect of varios antioxidants on aging in Drosophila // Toxicol Ind. Health.-1993-Vol.9. -P 163-186). Однако перенасыщение организма этими витаминами может вызывать быстрое развитие гипervитаминоза и неблагоприятно влиять на функциональное состояние органов и систем.

Известны препараты, проявляющие геропротекторную и антиоксидантную активность на основе этоксилина (сантохин). Введение его в пищу увеличивало продолжительность жизни мышей линии СЗН (Comfort A., Youhotsky-Gore J., Pathmanatchan K., Effect of ethoxyquin on the longevity of C3H mice // Nature.-1971-

Vol. 229. – Р. 254-255). Продолжительность жизни лабораторных животных увеличивалась также при приеме малотоксичного водорастворимого антиоксиданта – хлоргидрат 2-этил-6-метил-3-оксипиридина, структурного аналога витамина В6. (Обухова Л.К. Химические геропротекторы, увеличение продолжительности жизни// Усп. Химии-1975.-т.44-с.1914-1925.) Незначительное увеличение продолжительности жизни наблюдалось в экспериментах с 2-меркаптоэтаноломином, цистеином, центрофеноксином, бутилгидрокситолуолом, глутатионом, 3-гидроксипиридином, молочной и глюконовой кислотами (Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Экспериментальные пути продления жизни, - Л.,Наука, 1988, Обухова Л.К., Эммануэль Н.М., Молекулярные механизмы замедления старения антиоксидантами//Общие проблемы биологии./ ВИНТИ. -т.4,-с. 44-80.)

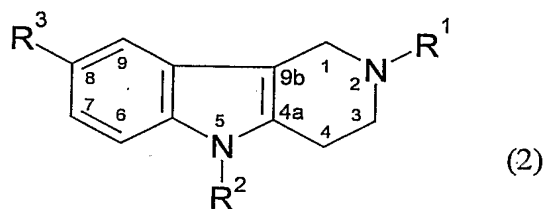
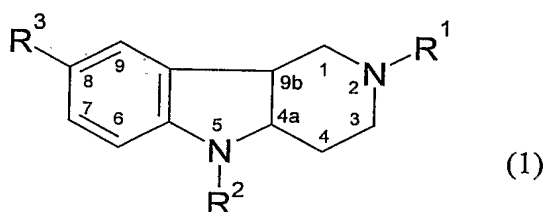
Однако эти химические соединения не нашли свое применение в медицине в качестве лекарственных препаратов.

В качестве геропротекторного средства используется лекарственный препарат, содержащий новокаин,- геровитал (Машковский М.Д. Лекарственные средства-М.: Медицина, 1993-ч.1,гл.3.-С.375). Однако иногда возможно проявление его отрицательного действия на функции сердечно-сосудистой системы, ухудшение сна, появление чувства беспокойства, боли в мышцах и суставах.

Соединениями с геропротекторными свойствами, открытыми в последние годы, являются эндогенные вещества мелатонин и N-ацетилсеротонин (НАС). Эти соединения обладают свойствами антиоксидантов и согласно одной из теорий механизма старения должны обладать геропротекторным действием (Heng-long Hu, Forsey R.J., Blades T.J., Barratt M.E.J., Parmar P., Powell J.R. Antioxidants may contribute in the fight against ageing: an in vitro model. Mechanisms of Ageing and Development 121 (2000) 217–230). И действительно, в опытах на мышцах линии C57/B было показано, что мелатонин и его предшественник НАС способны увеличивать срок жизни самцов, если они его получали с возраста 2 месяцев. В то же время, эти вещества были не эффективны в опытах на самках этой линии, если они получали их с возраста 12 месяцев (Oxenkrug G., Requintina P., Bachurin S. Antioxidant and Anti-Aging Activity of N-Acetylserotonin and Melatonin in the *in vivo* models. Ann.N.Y Acad. Sci. 2001, v.939, 190-199).

Задачей, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, является расширение арсенала средств, которые могут быть использованы в качестве новых эффективных геропротекторов – средств, продлевающих жизнь и улучшающих ее качество.

Поставленная задача решается применением гидрированных пиридо ([4,3-b]) индолов формулы (1) или формулы (2) в качестве средства для профилактики преждевременного старения- геропротектора млекопитающего



В случае применения соединений формулы (1),  $R^1$  выбирают из группы, содержащей  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - или  $\text{PhCH}_2$ ;

$R^2$  выбирают из группы, содержащей  $\text{H}$ ,  $\text{PhCH}_2$  или  $6\text{-CH}_3\text{-3-Py-(CH}_2\text{)}_2$ ;

$R^3$  выбирают из группы, содержащей  $\text{H}$ ,  $\text{CH}_3$ - или  $\text{Br}$ -; (такая формулировка означает, что комбинации этих радикалов могут быть любыми).

Указанные соединения могут представлять собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами и кватернизованные производные.

Одним из соединений, которое можно применять в качестве геропротектора может быть соединение формулы (1), в котором  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  -  $\text{H}$ , а  $R^3$ -  $\text{CH}_3$ -.

Это соединение может находится находится в форме ( $\pm$ ) цис-изомера

В случае применения соединений формулы (2)  $R^1$  выбирают из группы, содержащей  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - или  $\text{PhCH}_2$

$R^2$  выбирают из группы, содержащей  $\text{H}$ ,  $\text{PhCH}_2$  или  $6\text{-CH}_3\text{-3-Py-(CH}_2\text{)}_2$ , а

$R^3$  выбирают из группы, содержащей H,  $\text{CH}_3$ - или  $\text{Br}$ -;

Одним из соединений, которое можно применять в качестве геропротектора может быть соединение формулы (2), в котором  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - или  $\text{PhCH}_2$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ - H-.

Или соединение, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует  $\text{PhCH}_2$ -, а  $R^3$ -  $\text{CH}_3$ -.

Или соединение, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует 6-Ме-3-Рy-.

Или соединение,  $(\text{CH}_2)_2$ -, а  $R^3$ - H-, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует 6-Ме-3-Рy- $(\text{CH}_2)_2$ -, а  $R^3$ - $\text{CH}_3$ -

Или соединение, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ - H- или  $\text{CH}_3$ -.

Или соединение, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ -  $\text{Br}$ -.

Все указанные выше соединения могут применяться в форме кватернизованных солей.

Любое из выше указанных соединений может применяться в качестве геропротектора для человека, в частности для предупреждения катаракты, а также, в частности, для предотвращения аллопеции.

Соединения формулы (1) или (2) являются известными соединениями, широко применяемыми в фармакологической практике. Были проведены обширные исследования ряда известных соединений, представляющих производные тетра- и гексагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*] индола и проявляющих широкий спектр биологической активности. В ряду 2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индолов были обнаружены следующие виды активности: антигистаминная (OS-DE N 1813229 от 6 декабря 1968, N 1952800 от 20 октября 1969), центрально депрессантная, противовоспалительная (USP N 3718657 от 13 декабря 1970), нейрорепрессантная (Herbert C.A., Plattner S.S., Welch W.N., Mol. Pharm., 1980, v.17, N 1, p.38-42) и другие. Производные 2,3,4,4a,5,9b-гексагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*] индола проявляют психотропную Welch W.H., Herbert C.A., Weissman A., Koe K.B., J.Med.Chem., 1986, vol.29, N 10, p.2093-2099), антиагрессивную, антиаритмическую и другие виды активности.

На основе производных тетра- и гексагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индола

выпускается несколько лекарственных препаратов: диазолин (mefhydroline), димебон, дорастин, карбидин (дикарбин), стобадин, гевотролин. Диазолин (2-метил-5-бензил-2,3,4,5-тетра-гидро-1H-пиридо[4,3-b]индол) дигидрохлорид (Клюев М.А. Лекарственные средства, применяемые в медицинской практике СССР.-М.: Медицина 1991, стр.512) и димебон (дигидрохлорид 2,8-диметил-5-(2-(6-метил-пиридил-3)этил)-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индола) (Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2 ч., ч.1, 12-е изд.-М.: Медицина, 1993, с.383), а также его близкий аналог дорастин (2-метил-8-хлор-5-(2-(6-метил-3-пиридил)этил)-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индол) дигидрохлорид (USAN and USP dictionary of drugs names (United States Adopted Names 1961-1988, current U.S. Pharmacopeia and National Formular for Drygs, and other nonproprietary drug names), 1989, 26th Edition, p.196) известны как антигистаминные препараты. Карбидин (дикарбин) - дигидрохлорид цис(±)-2,8-диметил-2,3,4,4a,5,9b-гексагидро-1H-пиридо[4,3-b]индола является отечественным нейролептиком с антидепрессантным эффектом (Яхонтов Л.Н., Глушков Р.Г. Синтетические лекарственные средства. Под ред. А.Г.Натрадзе. - М.: Медицина, 1983, с. 234 - 237), а его (-)-изомер, стобадин, известен как антиаритмическое средство (Kitlova M., Gibela P., Drimal J., Bratisi. Lek. Listy, 1985, V. 84, N 5, p. 542 - 546); гевотролин (дигидрохлорид 8-фтор-2-(3-3-пиридил)пропил)-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо[4,3-b]индола) является антипсихотическим и анксиолитическим средством (Abou-Gharbi M., Patel U.R., Webb M.B., Moyer J.A., Ardnee T.H., J.Med.Chem., 1987, v.30, p. 1818 -1823).

В последние годы было найдено, что производные гидрированных пиридо[4,3-b] индолов формулы (1) или (2), в частности димебон, обладают также свойствами антагонистов NMDA-рецепторов, что делает их полезными для лечения нейродегенеративных заболеваний, особенно болезни Альцгеймера (патент РФ № 2106864 С1 6 А 61 К 31/475 , 20.03.98 Бюл. № 8).

Все указанные выше соединения являются известными из литературы и включают следующие конкретные соединения:

1. цис (±) 2,8-диметил-2,3,4,4a,5,9b-гексагидро-1H- пиридо/4,3-b/индол и его дигидрохлорид;

2. 2-этил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол;
3. 2-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1 Н-пиридо/4,3-*b*/индол;
4. 2,8 -диметил-5-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол и его гидрохлорид;
5. 2-метил-5-/2-(6-метил-3-пиридил) этил-/2,3,4,5- тетрагидро-1Н-пири-до/4,3-*b*/индол и его моногидрат сесквисульфата;
6. 2,8-диметил-5-/2-(6-метил-3пиридил) этил/ -2,3,4,5-тетрагидро- 1Н-пиридо /4,3-*b*/индол и его дигидрохлорид (димебон).
7. 2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол;
8. 2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол и его метилиодид;
9. 2-метил-8-бром-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо/4,3-*b*/индол и его гидрохлорид;

О получении и нейрорептических свойствах соединения 1 известно, например, из публикации: Яхонтов Л.Н. и Глушков Р.Г. Синтетические лекарственные средства. /Под ред. А.Г.Натрадзе. -М.: Медицина, 1983, стр. 234 - 237. Получение соединений 2, 8 и 9, а также сведения о том, что они обладают свойствами антагонистов серотонина, описываются, например, C.J.Cattanach, A.Cohen & B/H/Brown in J. Chem.Soc. (ser.C), 1968, 1235-1243. Синтез соединения 3 описывается, в частности, в статье N.P.Buu-Hoi, O.Roussel, P.Jacquignon, J.Chem.Soc., 1964, N 2, стр. 708 - 711. Н.Ф.Кучерова и Н.К.Кочетков в "Общей химии", 1956, т. 26, стр. 3149 - 3154 описывают синтез соединения 4, а о получении соединений 5 и 6 известно, например, из статьи А.Н.Кост, М.А.Юровской, Т.В.Мельниковой в "Химии гетероциклических соединений", 1973, N 2, стр. 207 - 212. В публикациях U.Horlein, Chem.Ber., 1954, Bd. 87, hft. 4, 463 - 472 описывается синтез соединения 7. М.А. Юровская, И.Л.Родионов в "Химии гетероциклических соединений", 1981, N 8, стр. 1072 - 1078 описывают получение метилиодида соединения 8.

Неожиданно было найдено, что соединения формулы (1) и формулы (2) проявляют анти-кальцевую активность. В частности, было обнаружено, что эти соединения способны ингибировать вход ионов кальция в нервные клетки, стимулированный активацией глутаматных рецепторов. С другой стороны известно, что гипернормальное увеличение концентрации ионов кальция в клетках



инициирует каскад дегенеративных процессов, сопровождающих процесс старения организма и развитие сопутствующих дегенеративных заболеваний. Нарушение кальциевого гомеостаза лежит в основе т.н. кальциевой теории старения и деменций (Calcium Hypothesis of Aging and Dementia. Ann. N.Y.Acad.Sci., 1994, v.747).

Таким образом соединения формулы (1) и формулы (2), благодаря обнаружению у них новых неожиданных свойств, которые не вытекают из химической структуры этих соединений, могут быть использованы в качестве геропротекторов.

Согласно изобретению фармакологическое средство, обладающее геропротекторной активностью, содержащее активное начало и фармацевтически приемлемый носитель в качестве активного начала содержит эффективное количество гидрированного пиридо (4,3-*b*) индола формулы (1) или формулы (2)

Понятие «геропротекторная активность», используемое в данной заявке подразумевает биологически активное действие, замедляющее старение и продлевающее жизнь путем профилактики преждевременного старения и улучшения ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста, таких как потеря зрения (катаракта), ухудшение кожно-волосного покрова (аллопеция), старческое снижение веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

Понятие «фармакологическое средство» подразумевает использование любой лекарственной формы, содержащей соединение формулы (1) или формулы (2), которые могли бы найти профилактическое или лечебное применение в медицине в качестве средства с геропротекторной активностью для профилактики старения.

Понятие «эффективное количество», используемое в данной заявке, подразумевает использование того количества соединений формулы (1) или формулы (2), которое в соединении с его показателями активности и токсичности, а также на основании знаний специалиста должно быть эффективным в данной лекарственной форме.

Для получения фармакологического средства одно или несколько соединений

формулы (1) или формулы (2), смешиваются как активный ингредиент с фармацевтически приемлемым носителем, известным в медицине согласно принятым в фармацевтике способам. В зависимости от лекарственной формы препарата носитель может иметь различные формы.

Согласно изобретению способ профилактики преждевременного старения заключается во введении пациенту фармакологического средства, содержащего эффективное количество гидрированного пиридо (4,3-b) индолов формулы (1) или формулы (2), в дозе 0,1 – 10 мг/кг массы тела по крайней мере один раз в день в течении периода, необходимого для достижения терапевтического эффекта.

Соединения формулы (1) или формулы (2) могут вводиться млекопитающим в виде общепринятых оральных композиций, таких как таблетки, таблетки с покрытием, желатиновые капсулы с твердым и мягким покрытием, эмульсии или суспензии. Примерами носителей, которые могут использоваться для изготовления таких композиций являются лактоза, кукурузный крахмал или его производные, тальк, стеариновая кислота или ее соли и т.п. Приемлемыми носителями для желатиновых капсул с мягким покрытием являются, например, растительные масла, воски, жиры, полутвердые и жидкие полиолы ит.п. Кроме того, фармацевтические препараты могут содержать консерванты, солюбилизаторы, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, корригенты, соли для изменения осмотического давления, буферы, покрывающие агенты или антиоксиданты. Они могут также содержать и другие вещества, обладающие ценными терапевтическими свойствами. Препаративные формы могут представлять собой обычную стандартную дозу и могут быть приготовлены известными в фармации способами.

Техническим результатом, который может быть получен при осуществлении изобретения являются значительное продление жизни и улучшение ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста, в частности, потери зрения (катаракта), ухудшения кожно-волосного покрова (аллопеция), старческого снижения веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

Возможность осуществления изобретения с реализацией заявляемого назначения и получением технического результата подтверждается, но не исчерпывается следующими сведениями.

Пример 1. Определение кальций-блокирующих свойств соединений гидрированных пиридо ([4,3-b]) индолов формулы (1) или формулы (2).

Оценка кальций-блокирующих свойств соединений проводилась на P<sub>2</sub>-фракции синапсом, выделенных из мозга новорожденных (8-11 дней) крыс по следующей методике [Bachurin S. и др : Neuroprotective and cognition enhancing properties of MK-801 flexible analogs. Structure-activity relationships. // Ann.N.Y Acad. Sci. 2001, v.939, P.219-235]. При этом определялась способность соединений ингибировать специфический захват ионов кальция через ионные каналы, связанные с глутаматными рецепторами.

Синапсомы помещались в инкубационный буфер А (132 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM HEPES) и выдерживались при температуре 0°C в течение всего эксперимента. Аликвоты синапсом (50 µl) помещались в среду А, содержащую исследуемые вещества и препарат радиоизотопа <sup>45</sup>Ca. Захват Ca<sup>2+</sup> стимулировался введением в смесь 20 мкл 10 mM раствора глутамата. После 5-минутной инкубации при 30°C процесс прерывали путем фильтрации через GF/B фильтры, трижды промывая холодным буферным раствором В (145 mM KCl, 10 mM трис, 5 mM трилон Б), после чего на сцинтилляционном счетчике "SL-4000 Intertechinc" проводилось детектирование радиоактивной метки. Первичное тестирование веществ проводили при концентрации вещества в 5 мкМ. Специфический захват Ca<sup>2+</sup> измерялся по следующим формулам:

$$K(43/21) = [(Ca4 - Ca3)/(Ca2 - Ca1)] * 100\%$$

где:

Ca1 - захват Ca<sup>2+</sup> - в контрольном эксперименте (без глутамата и тестируемого вещества);

Ca2 - захват Ca<sup>2+</sup> - в присутствии глутамата только (глутамат-индуцированный захват Ca<sup>2+</sup> - ГИЗСа)

Ca3 - захват  $\text{Ca}^{2+}$  - в присутствии тестируемого вещества (без глутамата.)

Ca4 - захват  $\text{Ca}^{2+}$  - в присутствии и глутамата и тестируемого вещества.

Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

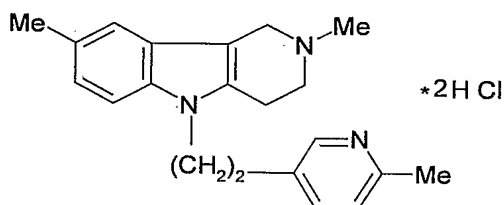
Таблица 1. Влияние исследованных веществ на глутамат-стимулированный захват  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  в синапсомы мозга крыс.

№	Структура	% Ca от контроля
1	цис (±) 2,8-диметил-2,3,4,4a,5,9b-гексагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол дигидрохлорид	40,5 ±1,0
2	2-этил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол	36,5 ±0,5
3	2-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1 H-пиридо/4,3-b/индол	28,5 ±2,5
4	2,8-диметил-5-бензил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол гидрохлорид	22,5 ±3,5
5	2-метил-5-/2-(6-метил-3-пиридил) этил/-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол моногидрат сесквисульфата	33,5 ±1,5
6	2,8-диметил-5-/2-(6-метил-3пиридил) этил/ -2,3,4,5-тетрагидро- 1H-пиридо /4,3-b/индол дигидрохлорид (димебон)	48,5 ±2,5
7	2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол	35,5 ±2,5
8	2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол метилиодид	18,0 ±2,5
9	2-метил-8-бром-2,3,4,5-тетрагидро-1H-пиридо/4,3-b/индол гидрохлорид;	30,0 ±3,0

Как видно из представленной таблицы все исследованные соединения обладают ярко выраженными кальций-блокирующими свойствами, что позволяет им претендовать, согласно указанной выше кальциевой теории старения и деменций (Calcium Hypothesis of Aging and Dementia. Ann. N.Y.Acad.Sci., 1994, v.747) на использование в качестве геропротекторов.

Пример 2. Данные о геропротекторной активности димебона.

В качестве представителя соединений общей формулы (1) и (2) был взят лекарственный препарат «Димебон», дигидрохлорид 2,8-диметил-5-[2-(6-метил-пиридил-3-)-этил]-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-б]индола формулы:



который был испытан нами в качестве соединения удлиняющего жизнь и улучшающего качество жизни (что характеризовалось по изменению числа патологий, сопутствующих старению) экспериментальных животных

Эксперименты проводили на самках линии C57/B, начиная с возраста 12 месяцев. Мыши находились в клетках по 10 штук в каждой. В контрольной и экспериментальной группах было по 50 животных. Животные имели свободный доступ к воде и пище. Цикл день – ночь состоял по 12 часов.

Предварительно было определено, какое количество воды выпивается животными в одной клетке за сутки, за 7 суток. Димебон растворяли в питьевой воде из расчета, чтобы животные получали его в среднем в дозе 3 мг/кг в сутки. Бутылки с порцией Димебона ставили в клетки каждые 7 дней. Животные в контрольной группе получали обычную питьевую воду.

Перед началом эксперимента все животные были взвешены, был определен средний вес в каждой группе, в каждой клетке, вес всех животных в каждой клетке. Было определено состояние их кожно-волосного покрова, наличие повреждения

глаз. Все животные на начало эксперимента выглядели здоровыми и не имели видимых повреждений. Замеры всех этих параметров производилось каждый месяц.

Статистическая обработка производилась с помощью Т-теста Стьюдента и критерия  $\chi^2$  («хи-квадрат»).

Результаты.

Длительность жизни.

Оценка параметра длительности жизни животных производилась методами, принятыми в демографии. Таким критерием является вероятность наступления смерти для каждой возрастной группы. Результаты представлены в Табл.2.

Таблица 2. Изменение численности животных (мышей С57В, самок), получающих Димебон в количестве 3 мг/кг в сутки (опыт) и получающих питьевую воду (контроль) в зависимости от их возраста.

Воз раст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Оп ыт	50	50	49	48	47	47	42	39	35	32	28	25	18	11
Кон тро ль	50	50	50	46	42	41	37	36	22	22	19	15	11	6

Верхний ряд- возраст животных в месяцах; нижние ряды- количество живых животных.

Как видно из Табл.2 гибель животных началась с возраста 14 месяцев, т.е. через 2 месяца после начала эксперимента. На протяжении всего времени эксперимента с 12 по 26 месяц жизни животных (кроме 14 месяца) численность животных в экспериментальной группе была больше, чем в контрольной. Другими словами, вероятность наступления смерти в случае применения Димебона

была ниже практически во всех возрастных группах. В возрастных группах 20-23 месяца это различие было статистически достоверным ( $p < 0.05$ ).

#### Изменение веса животных

На протяжении всего времени эксперимента происходит снижение веса тела в контрольной группе животных. Это явление носит естественный характер и называется старческое уменьшение веса. В группе животных, получающих Димебон, этого снижения веса не наблюдалось (Табл.3). Снижение веса в экспериментальной группе началось только на 23 месяце жизни животных, но и в этом случае вес их был выше, чем в контрольной группе. Тем не менее, эта разница в весе не имела характер достоверности ( $p > 0.05$ ).

Табл.3. Изменение веса мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Опыт	24.7	24.7	24.7	26	25.5	24.7	25.5	26	26	25.6	25.1	24.7	24	23.7
Контроль	25.3	24.7	24.3	24.6	24.5	23.5	24.2	23.5	23.8	23.2	23.7	23	22.8	22.2

Верхний ряд- возраст мышей в месяцах, нижние ряды- вес животных в граммах

#### Нарушение зрения

Нарушение зрения в виде появления катаракты на одном или двух глазах наблюдалось в контрольной группе уже через месяц после начала эксперимента (фото 1). Количество таких животных в этой группе стремительно нарастало с каждым последующим месяцем. В группе животных, получающих Димебон (Табл. 4), таких животных было существенно меньше ( $p < 0.05$  для 13-20 месяцев).

Табл.4. Нарушение зрения (появление старческой катаракты) у мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возраст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Опыт	0	0	0	4	6	6	10	13	17	25
контроль	0	4	4	11	19	30	М.д.	М.д.	М.д.	М.д.

Верхний ряд- возраст мышей в месяцах, нижние ряды - %мышей с катарактой.  
М.д.- мало данных.

С18-го месяца стало нарастать число животных с катарактой и в экспериментальной группе. Однако для последних 18 -21 месяцев сравнение между контрольной и экспериментальной группами было сильно затруднено из-за того, что многие мыши с катарактой в контрольной группе умерли, а в экспериментальной оставались жить.

#### Состояние кожно-волосного покрова.

Также начиная с первого месяца проведения эксперимента в контрольной группе появились животные с нарушением кожно-волосного покрова в виде проплешин,- так называемые аллопеции (фото. 2). Размер этих проплешин колебался у этих животных от 1 до 25 % поверхности тела. Разница в количестве животных с аллопециями в контрольной и экспериментальной группах была на протяжении с 13 по 21 месяц (Табл.5). При этом разница была статистически достоверной ( $p < 0.05$ ).

Табл.5. Нарушение кожно-волосного покрова у мышей в зависимости от возраста и применения димебона.

Возр аст	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Опы т	0	0	2	6	10	20	12	14	34	35
Конт роль	0	2	2	13	21	24	32	37	55	60

Верхний ряд- возраст мышей в месяца, нижние ряды - % мышей с аллопециями.

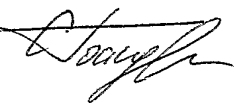
В дальнейшем, как и в случае с катарактой, число животных с аллопециями в контрольной группе снизилось за счет массовой гибели этих животных, в то время как в экспериментальной группе такие животные оставались живы.



Данные приведенные в таблицах 1-4 для наглядности представлены в виде графиков (фиг. 1-4) и фото (1,2). На фиг.1. приведено изменение численности животных (мышей С57В, самок), получающих Димебон в количестве 3 мг/кг в сутки (опыт) и получающих питьевую воду (контроль) в зависимости от их возраста. На фиг.2. представлено изменение веса мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фиг.3. представлено нарушение зрения (появление старческой катаракты) у мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фиг.4. представлено нарушение кожно-волосного покрова у мышей в зависимости от возраста и применения димебона. На фото 1 представлен вид контрольного животного с нарушением зрения в виде появления катаракты на одном или двух глазах через 2 месяца после начала эксперимента. На фото 2. Приведено сравнение внешнего вида (проплешин и волосного покрова) у контрольной группы мышей (А) и мышей получавших ежедневно Димебон в дозе 1мг/кг (Б) через 18 месяцев после начала эксперимента.

Полученные результаты свидетельствуют, что Димебон статистически достоверно снижает вероятность наступления смерти у старых животных. В случае применения Димебона статистически достоверно у старых животных замедляется развитие (снижается уровень) паталогий, не приводящие к смерти, - такие как, потеря зрения и нарушение кожно-волосного покрова. Снижение веса животных, являющееся характерной чертой старения, в группе животных получавших Димебон происходит значительно медленнее, чем в контрольной группе животных. Таким образом, Димебон увеличивает продолжительность жизни животных, снижает вероятность проявления несмертельных старческих паталогий. Другими словами - улучшается качество жизни старых животных. Все это свидетельствует о том, что Димебон наряду с его способностью оказывать терапевтический эффект при болезни Альцгеймера, является эффективным геропротектором.

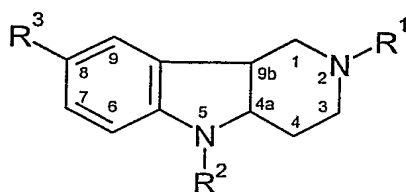
Представитель заявителя:



Бачурин С.О.

# Формула изобретения.

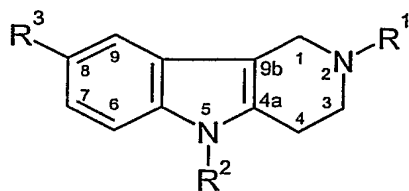
1. Применение гидрированных пиридо (4,3-b) индолов формулы (1) в качестве средства для профилактики преждевременного старения - геропротектора млекопитающего



(1)

- в которой R<sup>1</sup> выбран из группы, содержащей: CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>- или PhCH<sub>2</sub>;
- R<sup>2</sup> выбран из группы, содержащей: H-, PhCH<sub>2</sub>-или 6-CH<sub>3</sub>-3-Рy-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-
- R<sup>3</sup> выбран из группы, содержащей: H-, CH<sub>3</sub>- или Вг-;
2. Применение по п.1, где R<sup>1</sup> соответствует CH<sub>3</sub>-, R<sup>2</sup> - H-, а R<sup>3</sup>- CH<sub>3</sub>-
  3. Применение по п.2, где соединение находится в форме (±) цис-изомера
  4. Применение по п.1, где указанные соединения представляют собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами и кватернизованные производные.
  5. Применение по любому из пп.1-4, где указанным млекопитающим является человек.
  6. Применение по любому из пп.1-4, где соединение формулы (1) применяют в частности для предупреждения катаракты.
  7. Применение по любому из пп.1-4, где соединение формулы (1) применяют в частности для предотвращения алопеции.
  8. Применение гидрированных пиридо (4,3-b) индолов формулы (2) в

качестве средства для профилактики преждевременного старения - геропротектора млекопитающего



(2)

в которой  $R^1$  выбран из группы, содержащей  $\text{CH}_3$ -,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - или  $\text{PhCH}_2$ -

$R^2$  выбран из группы, содержащей H-,  $\text{PhCH}_2$ - или 6- $\text{CH}_3$ -3- $\text{Py}-(\text{CH}_2)_2$ -, а

$R^3$  выбран из группы, содержащей H-,  $\text{CH}_3$ - или Br-;

9. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - или  $\text{PhCH}_2$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ - H-.

10. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует  $\text{PhCH}_2$ -, а  $R^3$ -  $\text{CH}_3$ -.

11. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует 6-  $\text{CH}_3$ -3- $\text{Py}-(\text{CH}_2)_2$ -, а  $R^3$ - H-.

12. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует 6-  $\text{CH}_3$ -3- $\text{Py}-(\text{CH}_2)_2$ -, а  $R^3$ - $\text{CH}_3$ -

13. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ - H- или  $\text{CH}_3$ -.

14. Применение по п.8, где  $R^1$  соответствует  $\text{CH}_3$ -,  $R^2$  соответствует H-, а  $R^3$ - Br-.

15. Применение по п.8, где указанные соединения представляют собой соли с фармацевтически приемлемыми кислотами и кватернизованные производные.

16. Применение по любому из пп.8-14, где указанным млекопитающим является человек.

17. Применение по любому из пп.8-14, где соединение формулы (2)

применяют, в частности, для предупреждения катаракты.

18. Применение по любому из пп.8-14, где соединение формулы (2) применяют, в частности, для предотвращения алопеции.

19. Фармакологическое средство, обладающее геропротекторной активностью, содержащее активное начало и фармацевтически приемлемый носитель, отличающийся тем, что в качестве активного начала содержит эффективное количество соединения формулы (1) или формулы (2).

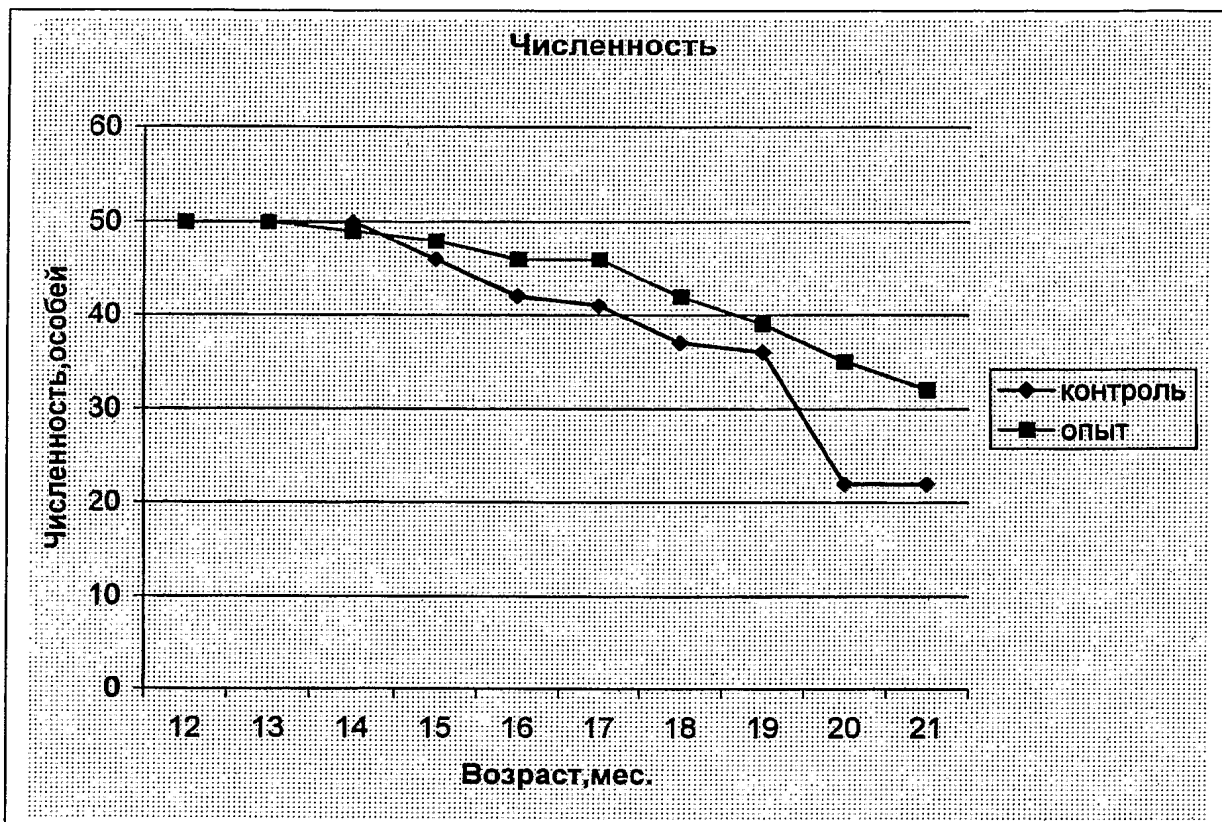
20. Способ профилактики преждевременного старения, заключающийся во введении пациенту фармакологического средства, содержащего эффективное количество соединения формулы (1) или соединения формулы (2) в дозе 0,1 – 10 мг/кг массы тела по крайней мере один раз в день в течении периода, необходимого для достижения терапевтического эффекта.

Представитель заявителей:

Бачурин С.О.

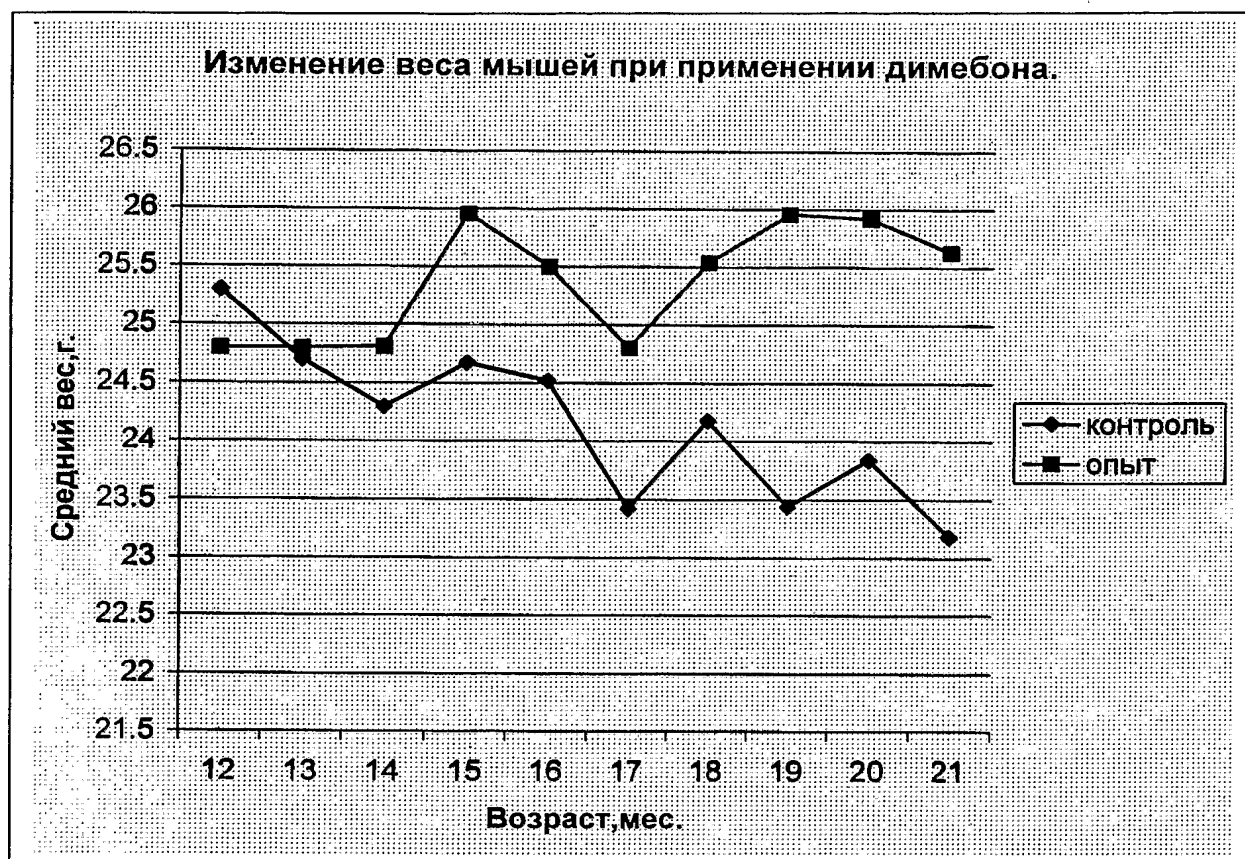


ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ



Фигура 1.

ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ



Фигура 2.

ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ



Фигура 3.

ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ



Фигура 4.



ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ



Фото 1.

ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ  
ПИРИДО(4,3-В) ИНДОЛОВ (ВАРИАНТЫ),  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ

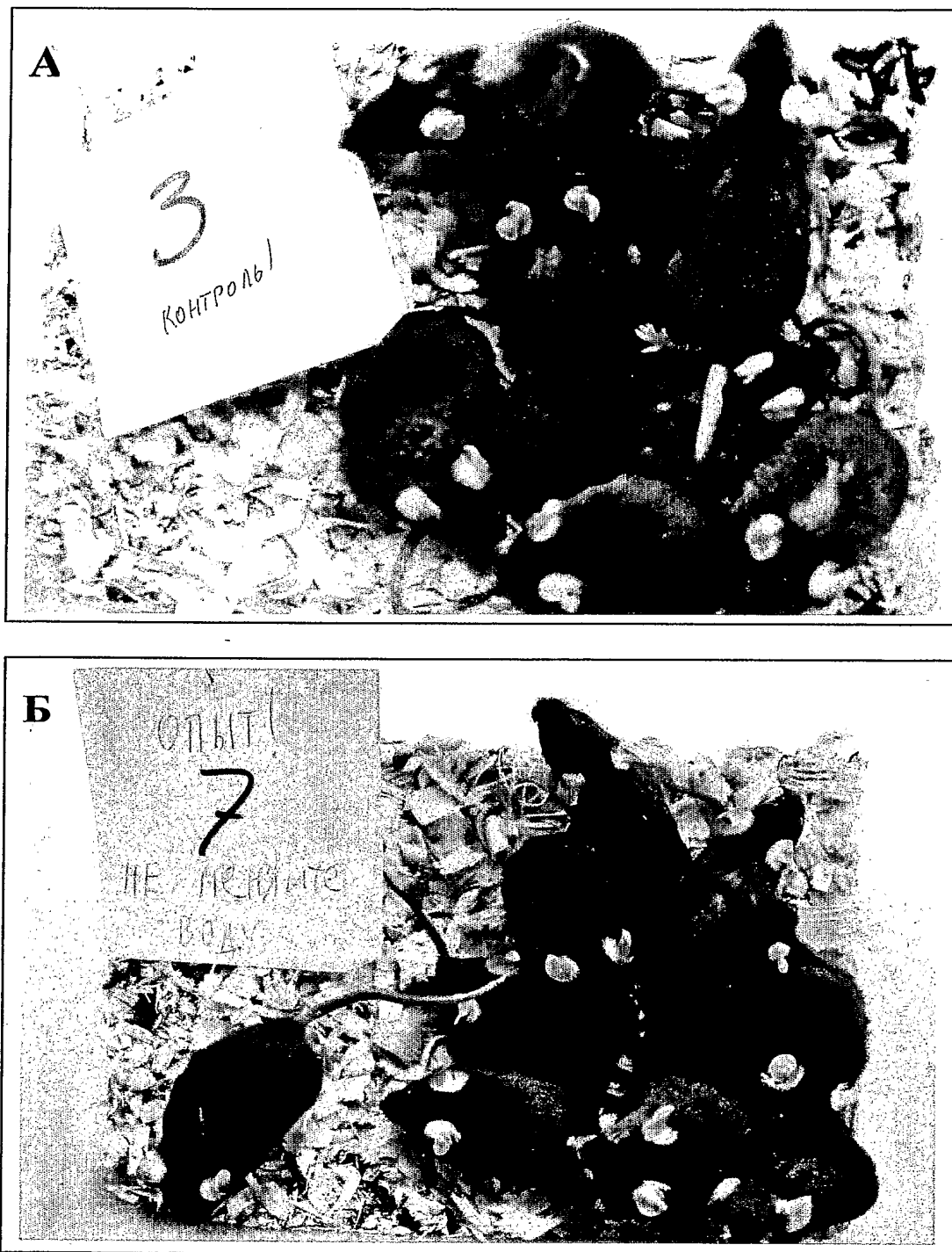


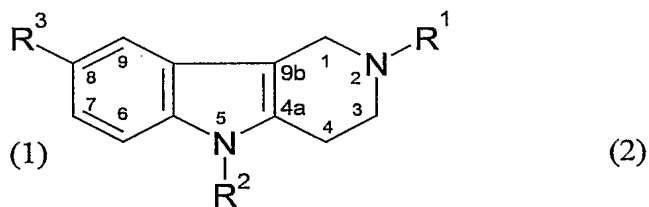
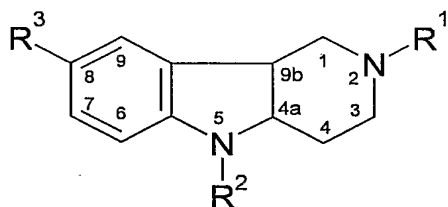
Фото 2.

**ГЕРОПРОТЕКТОР НА ОСНОВЕ ГИДРИРОВАННЫХ ПИРИДО (4,3-b)  
ИНДОЛОВ (варианты), ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО НА ЕГО  
ОСНОВЕ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ.**

**РЕФЕРАТ.**

Изобретение относится к использованию химических соединений в области медицины и может быть использовано как геропротекторное средство при изготовлении фармакологических препаратов для профилактики преждевременного старения организма, а именно продления жизни и улучшения ее качества путем снижения количества и степени интенсивности патологий, совместимых с жизнью, характерных для пожилого и старческого возраста, в частности, потери зрения (катаракта), ухудшения кожно-волосного покрова (аллопеция), старческого снижения веса вследствие гибели мышечных и жировых клеток.

Предлагается применение гидрированных пиридо ([4,3-b]) индолов формулы (1) или формулы (2) в качестве средства для профилактики преждевременного старения- геропротектора млекопитающего



Где  $R^1$ ,  $R^2$ , и  $R^3$  имеют значения приведенные в описании.

Предлагается также фармакологическое средство, содержащее в качестве активного начала эффективное количество соединения формулы (1) или формулы (2), а также способ профилактики преждевременного старения, заключающийся во введении пациенту фармакологического средства, содержащего эффективное количество соединения формулы (1) или соединения формулы (2) в дозе 0,1 – 10 мг/кг массы тела по крайней мере один раз в день в течении периода, необходимого для достижения терапевтического эффекта. 4с. и 16з.п. формулы, 4 фиг., 2 фото.